Test CEDIA® Metabolito de Metadona (EDDP)

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Para Usarlo En Diagnóstico In Vitro**

REF 10016421 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100088 (Kit de 3 x 17 mL)
100097 (Kit de 65 mL)
1730916 (Kit de 495 mL)

Uso

El test CEDIA® Metabolito de Metadona es un dispositivo médico para diagnóstico in vitro indicado para la determinación cualitativa y semicuantitativa de la EDDP (2-etilidin-1, 5-dimetil-3, 3-difenilpirrolidina) en orina humana.

El análisis sólo ofrece un resultado analítico preliminar. Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse un método químico alternativo más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM).[1] Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del test

La EDDP es el metabolito primario de la metadona.[2] La metadona es un agonista opiáceo sintético empleado frecuentemente en programas de desintoxicación como sustituto oral de heroína u otros drogas parecidos a la morfina a fin de suprimir los síntomas de abstinencia y/o mantener heroinómanos recidivistas crónicos.[3-7]

La medición de la EDDP en vez de la metadona de mantenimiento permite detectar a los individuos pertenecientes a programas de mantenimiento que venden su metadona en el mercado ilícito de drogas, agregando luego una pequeña cantidad de metadona a su muestra de orina para enmascararlo.[8] Su muestra urinaria puede dar un resultado positivo con respecto a la metadona, pero no arrojaría un resultado positivo en cuanto a la EDDP, dado que el fármaco no fue ingerido y por ello tampoco ha sido metabolizado.

El test CEDIA Metabolito de Metadona emplea la tecnología recombinante ADN (Patente E.E.U.U. nº 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de inmunosensayo enzimático.[9] El ensayo está basado en la enzima bacteriana β-galactosidasa, a base de la cual se obtuvieron- por un método de ingeniería genética - dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos se reasocian espontáneamente para formar una enzima plenamente activa que en el formato del ensayo desdobla el substrato, generando un cambio cromático que puede ser medido espectrofotométricamente.

En el ensayo, el fármaco en la muestra compite con el fármaco conjugado a un fragmento inactivo de β-galactosidasa para el lugar de fijación del anticuerpo. Si hay droga en la muestra, ésta se fija al anticuerpo, permitiendo que los fragmentos inactivos formen una enzima activa. Si no hay droga en la muestra, el anticuerpo se fija al droga conjugado en el fragmento inactivo, inhibiendo la reasociación de fragmentos inactivos de β-galactosidasa, no dándose ninguna formación de la enzima activa.

La cantidad de enzima formada y el cambio de absorbancia resultante son directamente proporcionales a la cantidad de fármaco presente en la muestra.

Reactivos

1 **Tampón aceptor enzimático (AE) de reconstitución:** Contiene piperazina-N, N-bis [2-ácido etansulfónico], 0,66 µg/mL anticuerpo monoclonales anti-EDDP, sales de tampón, estabilizador y conservante.
1a Reactivo aceptor enzimático: Contiene 0,171 g/L de aceptor enzimático, sales de tampón, detergente y conservante.
2 **Tampón donador enzimático de reconstitución:** Contiene piperazina-N, N-bis [2-ácido etansulfónico], sales de tampón y conservante.
2a Reactivo donador enzimático (DE): Contiene 16,0 µg/L de donador enzimático conjugado con un derivado de la EDDP, 1,67 g/L de rojo de clorofenol-β-D-galactopiranósido, estabilizador y conservante.

Material adicional: Etiquetas de código de barras alternativas (números de catálogo 100087 y 100096 solamente. Consulte el modo de empleo en la hoja de aplicaciones específica del analizador.) Envase de analizador vacío para trasvasar la solucion DE/AE (n° de cat 100096). Envase de analizador vacío para trasvasar la solución DE (número de catálogo 1868217 solamente).

Material adicional necesario (se vende por separado):

Calibrador CEDIA negativo
Calibrador CEDIA multidrogas, cutoffs primarios o cutoffs secundarios, cutoffs clínicos primarios o cutoffs opcionales
Calibrador CEDIA multidrogas intermedio
Calibrador CEDIA multidrogas alto
Conjunto CEDIA de controles multidrogas, conjunto de controles clínicos multidrogas, conjunto de controles específicos o conjunto de controles opcionales

⚠ Precauciones y advertencias

Los reactivos contienen azida sódica. Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas. Enjuagar las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte sin demora a un médico. La azida sódica puede reaccionar con tuberías de plomo o de cobre, formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Al eliminar tales reactivos, enjuagar siempre con abundantes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azida. Limpiar las superficies metálicas expuestas a la azida sódica con hidróxido sódico al 10%.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

Las instrucciones de preparación de las soluciones para los analizadores Hitachi se ven detalladas más abajo. Para todos los demás analizadores, consulte la aplicación específica del instrumento. Preparar las soluciones de trabajo empleando reactivos y tampones fríos. Sacar el estuche del frigorífico inmediatamente antes de preparar las soluciones de trabajo.

Preparar las soluciones en el siguiente orden para reducir a un mínimo una posible contaminación.

R2 Solución donador enzimático: Conectar el envase 2a (reactivo ED) al envase 2 (tampón reconstituyente ED) empleando uno de los adaptadores adjuntos. Mezclar mediante inversión suave, asegurando que todo el material liofilizado del envase 2a sea trasvasado al envase 2. Evitar la formación de espuma. Separar el envase 2a y el adaptador del envase 2 y desecharlos. Tapar el envase 2 y dejarlo reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Volver a mezclar. Registrar la fecha de reconstitución en la etiqueta del envase.

R1 Solución donador enzimático: Conectar el envase 1a (reactivo EA) al envase 1 (tampón reconstituyente EA) empleando uno de los adaptadores adjuntos. Mezclar mediante inversión suave, asegurando que todo el material liofilizado del envase 1a sea trasvasado al envase 1. Evitar la formación de espuma. Separar el envase 1a y el adaptador del envase 1 y desecharlos. Tapar el envase 1 y dejarlo reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Volver a mezclar. Registrar la fecha de reconstitución en la etiqueta del envase.

Número de catálogo 100096, analizador Hitachi 717, 911, 912 ó 914: Trasvase los reactivos reconstituidos a los envases de 100 mL vacíos R1 y R2 correspondientes suministrados con el kit. **Analizador Hitachi 917 y Sistema Modular Analytics P:** Utilice los reactivos reconstituidos sin trasvasar los envases.
Número de catálogo 1868217, analizador Hitachi 747 y Sistema Modular Analytics D: Trasvasar mediante el embudo parte de la solución R2 al envase suministrado de solución R2, adecuadamente etiquetado.

NOTA 1: Los componentes suministrados en este kit deben utilizarse en su conjunto. No mezclar componentes de lotes diferentes.
NOTA 2: Para evitar la contaminación reciproca de los reactivos, no intercambiar las tapas de sus envases. La solución R2 debe ser de color amarillo-anaranjado. Un color rojo o rojo-violáceo indica que el reactivo ha sido contaminado, debiendo ser desechido.
NOTA 3: Las soluciones R1 y R2 deben acusar la temperatura del compartimiento de reactivos del analizador antes de realizar el test. Para obtener más información, consultar la aplicación específica.
NOTA 4: Para asegurar la estabilidad de la solución AE reconstituida, ésta debe protegerse de la exposición continua prolongada a luz brillante.

Almacenar los reactivos a 2-8°C. **NO CONGELAR.** Para conocer la estabilidad de los componentes sin abrir, consultar las etiquetas de la caja o del envase y obtener la fecha de caducidad.

Solución R1: 60 días si se refrigera en el analizador o entre 2 y 8°C.
Solución R2: 60 días si se refrigera en el analizador o entre 2 y 8°C.

Recogida y manipulación de muestras

Las muestras de orina deben recogerse y conservarse en recipientes de vidrio o plástico limpios. Las muestras muy turbias deben centrifugarse antes de efectuar el test. Tratar la orina humana como material potencialmente infeccioso. Obtener otra muestra para su análisis si se sospecha que la muestra puede estar adulterada. La adulteración de las muestras de orina puede afectar los resultados del test.

The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice recomienda que las muestras no sometidas a un test inicial dentro de los 7 días de su llegada al laboratorio se conserven en unidades de refrigeración seguras.[10]

Procedimiento del test

Para la realización de este test pueden utilizarse analizadores químicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos y cronometrar la reacción de manera precisa. Microgenics, parte de Thermo Fisher Scientific puede suministrar hojas de aplicación con parámetros específicos para los instrumentos.

Sólo con los kits de 17 y 65 mL, se suministran etiquetas de códigos de barras adicionales para la determinación semicuantitativa. Para utilizarlas, aplique la etiqueta correcta a cada envase.

Control de calidad y calibración [11]

Evaluación cualitativa

Los Calibradores CEDIA Multidrogas de cutoffs primario y de cutoffs secundario, cutoffs clínicos primarios o cutoffs opcionales contienen 100 ng/mL de EDDP. Cualquiera de los dos puede utilizarse como calibrador de cutoff para el análisis cualitativo de muestras. Para los analizadores Hitachi se coloca el calibrador del cutoff seleccionado en la posición estándar seleccionada (S1) por el usuario. Para todos los demás analizadores, consultar la aplicación específica del analizador.

Evaluación semicuantitativa

Para el análisis semicuantitativo de las pruebas se usa el Calibrador Multidrogas con umbral primario o secundario conjuntamente con el Calibrador CEDIA Negativo y los Calibradores Intermedio y Alto para el análisis de los resultados.

Se recomienda como práctica de laboratorio que los controles se sometan a prueba cada día que se analicen muestras de paciente y cada vez que se haga una calibración. Se recomienda efectuar dos niveles de controles: uno 25% por encima y otro 25% por debajo del valor de umbral elegido. Los valores que se obtengan de los controles deben estar dentro de los límites especificados. En caso de detectar una tendencia determinada o variación repentina, revisar todos los parámetros operativos o consultar con el servicio de asistencia técnica de para obtener más detalles. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

El calibrador del umbral elegido se emplea como referencia al distinguir entre muestras positivas y negativas. Las muestras que producen un valor de respuesta igual a o mayor que el valor de respuesta del calibrador se consideran como positivas. Las muestras que producen un valor de respuesta menor que el valor de respuesta del calibrador se consideran como negativas. Para todos los demás analizadores, consulte la aplicaciónes específica del analizador para información adicional.

Resultados semicuantitativos

Los sistemas Hitachi calculan automáticamente la concentración de EDDP relativa estimada de cada muestra. Para los demás analizadores, consulte la aplicaciones específica del instrumento para obtener información detallada. Debe tenerse cuidado al informar sobre resultados de concentración dado que hay muchos otros factores que pueden influir en el resultado del ensayo urinario, tales como la ingestión de líquido y otros factores biológicos.

Limitaciones

1. Un resultado positivo del test indica la presencia de EDDP; no indica, ni tampoco mide la intoxicación.
2. Otras sustancias y/o factores no mencionados (p.ej., errores técnicos o de procedimiento) pueden interferir en el test y llevar a resultados erróneos.
3. Las muestras con alto contenido en metadona pueden producir un resultado positivo de EDDP durante la cromatografía de gases o la espectrometría de masas debido a la conversión térmica de metadona en EDDP.[12]

Características específicas

Los resultados típicos que se obtienen del analizador Hitachi 717 se muestran a continuación.[13] Los datos obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos.

Precisión

Los estudios para la medición de la precisión por medio de reactivos, calibradores y controles listos para la venta proporcionaron los siguientes resultados con un analizador Hitachi 171 Intraserie: n=21; interserie (cualitativa): n=51, 1-8 series día durante 15 días; e interserie (semicuantitativa): n=46, 1-6 series/día durante 18 días.

Cualitativa (mA/min):

	Intraserie			Interserie		
Muestra	$\bar{x}$	DE	%CV	$\bar{x}$	DE	%CV
Control -25%	244,1	2,78	1,1	244,2	5,6	2,3
Calibrador cutoff	271,9	2,69	1,0	263,8	6,8	2,6
Control +25%	276,7	3,63	1,3	284,0	7,8	2,7

Semiquantitative (ng/mL):

	Intraserie			Interserie		
Muestra	$\bar{x}$	DE	%CV	$\bar{x}$	DE	%CV
Control -25%	73,6	2,21	3,0	74,3	4,3	5,8
Calibrador cutoff	90,8	3,76	4,1	100,0	4,3	4,3
Control +25%	122,3	4,95	4,1	130,9	6,6	5,0

Exactitud

Ciento ochenta y un muestras clínicas y 19 muestras positivas diluidas fueron ensayadas con el test cualitativo CEDIA EDDP (100 ng/mL cutoff) en el Hitachi 717 empleando HPLC (100 ng/mL cutoff) y un enzimoinmunoensayo (EIE) (300 ng/mL cutoff) de tipo comercial como referencia como referencia. Se obtuvieron los siguientes resultados:

CLAP		CEDIA +	CEDIA -
	+	83	4
	-	2	111

EIE		CEDIA +	CEDIA -
	+	80	18*
	-	5†	97

* Dieciséis de las dieciocho muestras divergentes eran negativas según CLAP empleando un cutoff de 100 ng/L. Los valores HPLC eran como sigue: en seis muestras no se detectó EDDP; los resultados restantes eran 2, 11, 13, 42, 56, 60, 64, 86, 89 y 90 ng/mL EDDP. Los valores HPLC de las dos muestras finales eran 106 y 122 ng/mL EDDP.

† Tres de las muestras divergentes resultaban de la diferencia de la concentración cutoff en dos inmunoensayos. Los valores HPLC de estas muestras eran 104, 120 y 143 ng/mL EDDP. Los valores HPLC de las dos muestras restantes eran 70 y 347 ng/mL EDDP.

Especificidad

Los siguientes compuestos y metabolitos fueron analizados con el test CEDIA EDDP, protocolo para 100 ng/mL:

Compuesto	Concentración ensayada (ng/mL)	% de reactividad cruzada
EDDP	100	100,0
EMDP	200.000	0,004
Metadona	600.000	0,016
α-levo-acetilmetadol	1.000.000	0,000
α-levo-noracetilmetadol	1.000.000	0,001
α-levo-dinoracetilmetadol	1.000.000	0,000

Se ensayaron compuestos estructuralmente no relacionados mediante el test CEDIA EDDP, dando una respuesta <100 ng/mL al ser ensayados a las concentraciones indicadas a continuación.

Compuesto	Concentración ensayada (ng/mL)	Compuesto	Concentración ensayada (ng/mL)
Acetaminofeno	500.000	Doxilamina	500.000
Ácido acetilsalicílico	500.000	Enalapril	500.000
Ácido salicilúrico	500.000	Fenobarbital	100.000
Amoxicilina	500.000	Fluoxetina	500.000
Anfetamina	100.000	Ibuprofeno	500.000
Benzoilecgonina	100.000	Levotiroxina	500.000
Captopril	500.000	Metanfetamina	100.000
Cimetidina	500.000	Morfina	100.000
Clordiazepóxido	100.000	Nifedipina	500.000
Codeína	100.000	Propoxifeno	100.000
Dextrometorfan	175.000	Ranitidina	500.000
Diazepam	100.000	Secobarbital	100.000
Difenhidramina	500.000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	9.330
Digoxina	100.000	Verapamil	500.000
Disopiramida	1.000.000		

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a las concentraciones endógenas normales encontradas en orina cuando se analizan con el test CEDIA EDDP:

Sustancia	Concentración ensayada	Sustancia	Concentración ensayada
Acetona	≤ 1,0 g/dL	Galactosa	≤ 10 mg/dL
Ácido ascórbico	≤ 1,5 g/dL	Gamma globulina	≤ 0,5 g/dL
Ácido oxálico	≤ 0,1 g/dL	Glucosa	≤ 1,0 g/dL
Albúmina de suero humano	≤ 0,5 g/dL	Hemoglobina	≤ 0,3 g/dL
Cloruro sódico	≤ 6,0 g/dL	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dL
Creatinina	≤ 0,5 g/dL	Urea	≤ 1,3 g/dL
Etanol	≤ 1,0 g/dL		

Sensibilidad

Para la aplicación cualitativa, el límite de detección (LDO) fue de 6,3 ng/mL. Para la aplicación semicuantitativa, el límite de detección fue de 2,0 ng/mL.

Bibliografía

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986;73: 30-41.
2. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 3rd ed. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1989.
3. AHFS drug information. American Hospital Formulary Service, 1992.
4. Julien RM. A primer of drug action. 5th ed. NY: WH Freeman, 1988.
5. Physician's desk reference. 49th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Data Production Co; 1995.
6. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk, CT: Appleton & Lange; 1995.
7. Facts and comparisons: Loose-leaf drug information service. St. Louis, MO: Facts and Comparisons; 1990.
8. Goldman FR, Thistel CI. Diversion of methadone: Illicit methadone use among applicants to two metropolitan drug abuse programs. Int J Addict. 1978;13: 855-862.
9. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32:1637-1641.
10. Notice of mandatory guidelines for federal workplace drug testing program: Final guidelines. Federal Register. 1994;110 (June 9):11983. (Revised guidelines expected 2002).
11. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.
12. Galloway FR, Bellet NF. Methadone conversion to EDDP during GC-MS analysis of urine samples. J Anal Toxicol. 1999; 23: 615-619.
13. Data on file at Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EE.UU.
Servicio al cliente y de
asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342

EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300

Para actualizaciones de folletos, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:
Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.

CEDIA es una marca registrada de Roche Diagnostics.

10006492-3-ES
2014 06

Thermo SCIENTIFIC